



430.

COPY OF PAPERS  
ORIGINALLY FILED

1632.  
#5

211A 3161 PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of:

MINORU TAKEBE et al.

Serial No.: 10/070,888

Filed: March 6, 2002

For: STEM-CELL AUGMENTING  
MATERIAL

RECEIVED

JUN 27 2002

TECH CENTER 1600/2900

TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT

Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

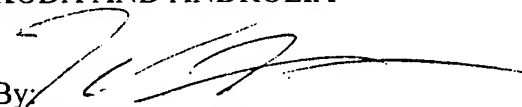
Dear Sir:

In connection with the above-identified application, enclosed herewith please find one (1) certified copy of Japanese Application No. 2000-217967 filed on July 18, 2000 upon which Convention Priority is claimed.

Respectfully submitted,

KODA AND ANDROLIA

By:

  
William L. Androlia  
Reg. No. 27,177

Dated: June 18, 2002

2029 Century Park East  
Suite 3850  
Los Angeles, CA 90067  
(310) 277-1391  
(310) 277-4118 (fax)

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service with sufficient postage as first class mail in an envelope addressed to:

Commissioner for Patents, Washington D.C. 20231, on

June 18, 2002

Date of Deposit

William L. Androlia

Name

Signature

6/18/2002

Date



日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

RECEIVED  
JUN 27 2002  
TECH CENTER 1600/2900

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日  
Date of Application: 2000年 7月18日

出願番号  
Application Number: 特願2000-217967

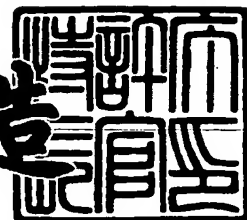
[ST.10/C]: [JP2000-217967]

出願人  
Applicant(s): ニチモウ株式会社

2002年 5月27日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2002-3038773

【書類名】 特許願

【整理番号】 J-4520

【提出日】 平成12年 7月18日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 45/00

【発明の名称】 造血幹細胞増強素材

【請求項の数】 6

【発明者】

【住所又は居所】 東京都品川区東品川2丁目2番20号 ニチモウ株式会社  
社内

【氏名】 武部 実

【発明者】

【住所又は居所】 東京都品川区東品川2丁目2番20号 ニチモウ株式会社  
社内

【氏名】 潘 偉軍

【特許出願人】

【識別番号】 000110882

【氏名又は名称】 ニチモウ株式会社

【代理人】

【識別番号】 100081282

【弁理士】

【氏名又は名称】 中尾 俊輔

【選任した代理人】

【識別番号】 100085084

【弁理士】

【氏名又は名称】 伊藤 高英

【選任した代理人】

【識別番号】 100115314

【弁理士】

【氏名又は名称】 大倉 奈緒子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015967

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 造血幹細胞増強素材

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 イソフラボンアグリコンを有することを特徴とする造血幹細胞増強素材。

【請求項 2】 イソフラボンアグリコンは穀類由来の素材であることを特徴とする請求項 1 に記載の造血幹細胞増強素材。

【請求項 3】 穀類由来の素材は、穀類を麹菌によって発酵させて蛋白質を分解し、その後に加水分解することにより生成されていることを特徴とする請求項 2 に記載の造血幹細胞増強素材。

【請求項 4】 穀類は豆類であることを特徴とする請求項 3 に記載の造血幹細胞増強素材。

【請求項 5】 イソフラボンアグリコンは加水分解することにより生成された素材を更に濃縮することにより生成されていることを特徴とする請求項 3 または請求項 4 に記載の造血幹細胞増強素材。

【請求項 6】 豆類を麹菌によって発酵させて蛋白質を分解した生成物を更に加水分解する際に、当該生成物中に含まれている乳酸菌およびまたは前記生成物に添加された乳酸菌を増殖促進させている生成物であることを特徴とする造血幹細胞増強素材。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、骨髓における造血幹細胞を増強させる機能を備えた造血幹細胞増強素材に関する。

【0002】

【従来の技術と発明が解決しようとする課題】

一般に、造血は骨髓によって行われる。また、胎生期においては造血を行う器官が胎生月齢の増加によって変化して行き、生まれる直前には骨髓が造血作用を発揮していることも知られている。骨髓による造血は、最初に造血幹細胞が生成

され、この造血幹細胞がその後に増殖したり、分化して赤血球および白血球となって、体内に供給される。従って、骨髓の造血作用としての造血幹細胞の生成が常に正常に行われることが、人および家畜等の他の動物の健康を維持するためには不可欠のことである。

## 【 0 0 0 3 】

一方、大量の放射線照射を受けたり、抗癌剤の投与を受けると、それらの急性症で死亡するのではなく、その副作用として骨髓の造血機能即ち造血幹細胞の生成機能がダメージを受けて低下させられ、その結果赤血球および白血球等からなる血球の生成も低下させられて死亡することが多いと言われている。

## 【 0 0 0 4 】

この血球生産機能のダメージ発生があると、癌治療によって癌細胞の減少や消滅が実現しても、血液不足によって生命を絶たれるという不都合があった。換言すれば、骨髓の造血幹細胞が正常に維持されていれば、癌治療の効果が発揮されて、癌を克服することができるものであるが、現状においてはこれが不可能である。

## 【 0 0 0 5 】

そこで、癌治療等の治療による効果を上げるためにも、骨髓の造血幹細胞を増強する素材の開発が望まれている。

## 【 0 0 0 6 】

更に、健康体においても体力増強、抵抗力強化のためにも、骨髓の造血幹細胞を増強する素材の開発が望まれている。

## 【 0 0 0 7 】

本発明はこれらの点に鑑みてなされたものであり、経口摂取や点滴などにより体内に吸収させて、骨髓の造血幹細胞を増強することのできる造血幹細胞増強素材を提供することを目的とする。

## 【 0 0 0 8 】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者は鋭意研究し、放射線を照射したラットに対して、イソフラボンアグリコンおよび穀類を麹菌によって発酵させて蛋白質を分解した生成物を更に加水

分解する際に、当該生成物中に含まれている乳酸菌およびまたは前記生成物に添加された乳酸菌を増殖促進させている生成物の一方または両方を経口摂取させ、その後健康なラットの骨髄を移植したところ、脾臓の機能の大きな回復をみて、これらのイソフラボンアグリコンや穀類を麹菌によって発酵させて蛋白質を分解した生成物を更に加水分解する際に、当該生成物中に含まれている乳酸菌およびまたは前記生成物に添加された乳酸菌を増殖促進させている生成物が体内に吸収されことにより、骨髄の造血幹細胞を増強することができることを発見して本発明を完成させた。

## 【 0 0 0 9 】

請求項 1 に記載の本発明の造血幹細胞増強素材は、イソフラボンアグリコンを有することを特徴とする。

## 【 0 0 1 0 】

本発明のようにイソフラボンアグリコンを有する造血幹細胞増強素材を体内に吸収させると、骨髄の造血幹細胞を増強することができる。

## 【 0 0 1 1 】

即ち、このイソフラボンアグリコンは骨髄の造血幹細胞を増強する機能を有しており、体内に吸収されると、骨髄の造血作用を増強させて、造血幹細胞が増殖したり、分化して赤血球および白血球となって、適正量の血球等の成分を有する血液が体内に供給されることとなる。

## 【 0 0 1 2 】

これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髄の造血作用としての造血幹細胞の生成が常に正常に行われて適正量の血球等の成分を有する血液が体内に供給されることとなり、例えば、大量の放射線照射を受けたり、癌の治療法としての放射線照射を受けたり、抗癌剤の投与を受けた場合に起こるとされている骨髄による造血機能の低下を防止したり、低下してしまった造血機能を大きく回復させることが期待できる。これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくことによって、副作用を発生させないで癌治療を施して、癌を克服することができることが期待できる。

【 0 0 1 3 】

更に、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髓の造血幹細胞を増強させて、適正量の血球等の成分を有する血液を体内に供給させる機能を発揮させて、各種の病気の予防を行って、健康を維持することが期待できる。

【 0 0 1 4 】

このイソフラボンアグリコンは穀物由来の素材とするとよい。また、穀物由来の素材としては特に豆類がよく、イソフラボンアグリコンとしては豆類を麹菌によって発酵させて、麹菌の酵素で豆類の成分を加水分解させることにより生成するとよい。更に、こうして得られたイソフラボンアグリコンは溶媒で抽出濃縮することにより生成するとよい。

【 0 0 1 5 】

このようにして製造された本発明の造血幹細胞増強素材は、豆類を麹菌によって発酵させる製麹処理とその後の加水分解処理とにより、大豆粕中の蛋白質およびまたは糖質が十分に分解されてイソフラボンアグリコンを多量に含む生成物とされ、前記の骨髓の造血幹細胞を増強作用をより効果的に行わせることができる。

【 0 0 1 6 】

また、本発明の造血幹細胞増強素材は、豆類を麹菌によって発酵させて蛋白質を分解した生成物を更に加水分解する際に、当該生成物中に含まれている乳酸菌およびまたは前記生成物に添加された乳酸菌を増殖促進させている生成物（以下、「麹菌大豆発酵培養物」という）であることを特徴とする。

【 0 0 1 7 】

この麹菌大豆発酵培養物も、前記イソフラボンアグリコンと同様の骨髓の造血幹細胞を増強する機能を有しており、同様の優れた作用を発揮する。

【 0 0 1 8 】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態を説明する。

【 0 0 1 9 】



本発明の造血幹細胞増強素材は、イソフラボンアグリコンおよびまたは麹菌大豆発酵培養物を有することを特徴とする。具体的には、イソフラボンアグリコンおよびまたは麹菌大豆発酵培養物を含有している固体状（粉体、粒体等のあらゆる状態を含む）若しくは液体状の食料や薬である。

## 【 0 0 2 0 】

一方のイソフラボンアグリコンとしては、どのような原料から得られたものでもよいが、穀類を原料として得た穀物由来の素材とするとよい。また、穀類由来の素材としては、特に豆類を麹菌によって発酵させ、その後に加水分解することにより麹菌の酵素で豆類の成分を分解させて生成するとよい。更に、イソフラボンアグリコンとしては前記のようにして加水分解することにより生成された素材を、更に溶媒によって抽出濃縮することにより生成するとよい。

## 【 0 0 2 1 】

このように形成されている本発明のイソフラボンアグリコンを有する造血幹細胞増強素材を所定期間に亘って経口投与や点滴によって継続的に体内に吸収させると、骨髓の造血幹細胞を増強させることができる。

## 【 0 0 2 2 】

次に、イソフラボンアグリコンを有する本発明の造血幹細胞増強素材を麹菌を用いて発酵させて生成する場合について図 1 により説明する。

## 【 0 0 2 3 】

図 1 はその実線部分において本発明により豆類の 1 種である大豆粕から造血幹細胞増強素材を製造する製造方法の 1 実施の形態を示し、同図鎖線部分において更に本発明の麹菌大豆発酵培養物の製造方法の実施の形態を示している。

## 【 0 0 2 4 】

この図 1 の実線に示す工程に沿って本発明の造血幹細胞増強素材を製造する場合を説明すると、まず、大豆粕を蒸煮する。この蒸煮を施すことにより、蒸煮を行わない場合に比較して麹菌の増殖が容易となる。また、この大豆粕の蒸煮は製造目的等に応じて蒸煮とその後の製麹処理とを別個に行なうバッチ式や、蒸煮とその後の製麹処理とを連続して行なうことのできる製麹装置によって連続式で行うようにするとよい。

【 0 0 2 5 】

そして、この蒸煮が終了した大豆粕を一旦冷却して、大豆粕中の水分量を麹菌が増殖可能な量（例えば、約 3 6 重量％）とさせる。

【 0 0 2 6 】

このようにして水分量を整えられた大豆粕に対して、本発明に従って造血幹細胞増強素材が以下のようにして製造される。

【 0 0 2 7 】

即ち、蒸煮が終了した大豆粕単体を冷却して麹菌が死滅しない温度以下の 4 0℃以下になった時に、麹菌からなる種麹を所定重量比だけ接種し、両者が均一となるまで混合する。

【 0 0 2 8 】

その後、接種した種麹の増殖作用により混合物の温度を上げるために混合物を製麹装置内で品温を一旦低下させて約 3 2℃程度にコントロールしながら放置すると大豆粕が麹菌によって発酵させられて、即ち製麹処理が進行して約 3 8℃程度まで昇温するとともに、増殖する麹菌の菌糸の成長に伴って生成物が締まって固まって来る。その後、製麹が進行して製麹装置内において固まって来る生成物を回転攪拌してほぐすとともに、通気を行って内部に均一に空気を供給し、品温を約 3 3～3 5℃程度まで下げるようにコントロールし、更に通気を継続しながら製麹処理を進行させる。これにより麹菌が死滅することを確実に防止して、麹菌の増殖を十分に行わせることができる。その後、製麹装置内の生成物の固まり具合に応じて必要回数の回転攪拌を施すとともに、通気を継続する。

【 0 0 2 9 】

この製麹に用いる麹菌としては、古くからの日本独特の発酵食品やテンペに用いられている麹菌であり、食品として安全なアスペルギルス・ウサミ、アスペルギルス・カワチ、アスペルギルス・アワモリ、アスペルギルス・サイトイ、アスペルギルス・オリゼー、アスペルギルス・ニガー等のアスペルギルス属およびリゾプス属の麹菌を用いるとよい。

【 0 0 3 0 】

この発酵時間については、使用する麹菌の種類に応じて、少なくとも 2 4 時間

以上であり、麹菌が十分に増殖して大豆粕中の蛋白質およびまたは糖質を所定量分解させるに十分な発酵時間とするとよい。

#### 【0031】

本実施形態においては、製麹処理による生成物に対して蛋白質およびまたは糖質の加水分解を更に行なうものである。ここで糖質とは少糖類等の糖類や澱粉等を含むものである。

#### 【0032】

この製麹処理後の加水分解も基質をフレーク状態に保持したまま行なわれる。すなわち、本実施形態においては、製麹終了後の生成物に、例えば50重量%の水分量となるように加水してから30～45℃に加温し、保温しながら所定時間保持して製麹処理による生成物内の蛋白質およびまたは糖質の加水分解が施される。このようにして蛋白質およびまたは糖質の加水分解が行われることにより、骨髓の造血幹細胞を増強する機能を有しているイソフラボンアグリコンが多量に生成される。

#### 【0033】

次に、本発明の造血幹細胞増強素材について具体例をもって説明する。

#### 【0034】

前記のようにして麹菌としてアスペルギルス・オリゼーを用いて本発明によって生成した造血幹細胞増強素材となる発酵大豆粕はイソフラボン化合物が良好に分解されたものとなる。即ち、未処理大豆粕においては、グリコシドであるダイジンおよびゲニスチンがアグリコンであるダイゼインおよびゲニステインに比較して極めて多いのに、本発明によって生成された発酵大豆粕においては、グリコシドであるダイジンおよびゲニスチンが分解されて極めて少なくなり、分解によって生成されたアグリコンであるダイゼインおよびゲニステインが極めて多くなる。即ち、無処理の大豆粕に対して品温が35℃になるように通風しながら、調節し、48時間の製麹を施し、水分含量が約50%となるように加水し、45℃で24時間以上に亘って麹菌の酵素で大豆の成分や麹菌の成分を加水分解を施してなる大豆粕中のイソフラボン化合物の含有量は表1の通りとなり、イソフラボン化合物のアグリコン体であるダイゼインやゲニステインが多量に得られること

が分かる。

【0035】

【表1】

ダイジン	ダイゼイン	ゲニスチン	ゲニス테인
検出せず	70	103	64

(単位: mg / 100 g)

【0036】

また、大豆胚芽について説明すると、予め大豆胚芽を蒸煮後に水分含量が約37%となるように加水した後、蒸煮し、殺菌し、冷却した後、大豆胚芽と麹菌との配合割合は、大豆胚芽を400kgに対して麹菌胞子を $8 \times 10^7$  個/gに調整した種麹（精白米にて調整）を200gを混合した。更に、製麹のスタート時には32℃に冷却した後、品温が40℃になるまで通風しないで40℃になった時点で通風しながら、温度上昇を抑えた。スタートから約17時間後の最初の攪拌（盛工程）を行った。大豆胚芽の熱を冷まし、攪拌後品温が35℃前後になるように通風しながら、温度をコントロールをした。次いで約8時間後に2回目の攪拌（仲工程）を行い、熱を冷ました。再び品温を通風で35℃前後にコントロールし、さらに約16時間後に3回目の攪拌（仕舞工程）を前回同様に行った。その後は品温が約38℃になるように通風しながら、温度コントロールし、スタートから48時間後に製麹を終了させた。製麹終了後、水分含量が50%になるように攪拌しながら、水分調整を行い、品温が約50℃になるように加温後、48時間以上麹菌の酵素で大豆胚芽中のイソフラボン化合物の大部分がアグリコン体になるまで加水分解した。表2の通り本発明による処理により大豆胚芽のイソフラボン化合物はアグリコン体のダイゼインが主体に多量得られた。

【0037】

【表2】

単位：mg/100g

成分		本 発 明	未 処 理
グリコシド	ダイジン	70	840
	ゲニスチン	40	170
	グリシチン	130	620
	計	240	1630
アグリコン	ダイゼイン	680	10
	ゲニステイン	130	2.4
	グリシテイン	240	2.0
	計	1050	14.4

【0038】

また、本実施形態においては加水分解によって得られた生成物を溶媒を用いて更に抽出濃縮することにより表3のようなイソフラボンアグリコンが30重量%以上の濃縮物を得るとよい。

【0039】

【表3】

本発明素材の濃縮物の組成

分 析 項 目	規 格 値	分 析 値
性 状	淡褐色の粉末で、異味、異臭、異物がないこと	適 合
乾 燥 減 量	5 % 以 下	2.8 %
強 熱 残 分	3 % 以 下	0.1 %
ヒ 素	2 p p m 以 下	適 合
重 金 属	20 p p m 以 下	適 合
残 留 農 薬	検 出 せ ず	検 出 せ ず
一 般 生 菌 数	3000個/g以下	3000個/g以下
大 腸 菌 群	陰 性	陰 性
イソフラボンアグリコン量	30 % 以 上	32.9 %
ダ イ ゼ イ ン		23.4 %
グ リ シ テ イ ン		8.0 %
ゲ ニ ス テ イ ン		1.5 %

【0040】

このようにして製造された本実施形態の造血幹細胞増強素材は、製麹処理とその後の加水分解処理により大豆粕中の蛋白質およびまたは糖質が十分に分解され

てイソフラボンアグリコンを多量に含む生成物とされる。このイソフラボンアグリコンは骨髓の造血幹細胞を増強する機能を有しており、体内に吸収されると、骨髓の造血作用を増強させて、造血幹細胞が増殖したり、分化して赤血球および白血球となって、適正量の血球等の成分を有する血液が体内に供給されることとなる。

## 【0041】

これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髓の造血作用としての造血幹細胞の生成が常に正常に行われて適正量の血球等の成分を有する血液が体内に供給されることとなり、例えば、大量の放射線照射を受けたり、癌の治療法としての放射線照射を受けたり、抗癌剤の投与を受けた場合に起こるとされている骨髓による造血機能の低下を防止したり、低下してしまった造血機能を大きく回復させることが期待できる。これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくことによって、副作用を発生させないで癌治療を施して、癌を克服することができることが期待できる。

## 【0042】

更に、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髓の造血幹細胞を増強させて、適正量の血球等の成分を有する血液を体内に供給させる機能を発揮させて、各種の病気の予防を行って、健康を維持することが期待できる。特に、原子力施設において作業する人や、レントゲン等の放射線を取り扱う人にとって、本発明の造血幹細胞増強素材を摂取することによってより効果的に健康を維持することができる。

## 【0043】

次に、図1の鎖線に示す部分により本発明の造血幹細胞増強素材である麹菌大豆発酵培養物の製造方法を説明する。

## 【0044】

この麹菌大豆発酵培養物は、豆類を麹菌によって発酵させて蛋白質を分解した生成物を更に加水分解する際に、当該生成物中に含まれている乳酸菌およびまたは前記生成物に添加された乳酸菌を増殖促進させている生成物であり、加水分解

の際に乳酸菌をも用いることが前記のイソフラボンアグリコンの生成方法と相違する点である。

【 0 0 4 5 】

本実施の形態においては、製麹処理によって生成された生成物に対して、加水分解工程において麹菌と乳酸菌とを共存共生させて増殖促進させるようにして麹菌大豆発酵培養物を生成するものである。

【 0 0 4 6 】

この乳酸菌を用いる方法としては 2 種類ある。

【 0 0 4 7 】

乳酸菌を用いる一方の方法の実施の形態を説明すると、加水分解を乳酸菌の菌数が  $10^8$  cfu/g 以上になるまでに必要な時間を保持するようにして生成物を製造するものである。その他は前記実施の形態と同様に行われる。このように本実施の形態においては、製麹処理による生成物中に天然に含まれている乳酸菌を利用して行うものである。そして、本実施の形態においてはプロバイオテックスが利用されて、乳酸菌と麹菌とは原料である豆類からの生成物よりなる同一の基質上に共存共栄して一緒に活発に増殖される。

【 0 0 4 8 】

本実施の形態において、麹菌として味噌用麹菌のアスペルギルス・オリゼーを用いて本発明の製造方法に従って製造された発酵大豆粘から乳酸菌を分離し、表 4 に示す試験項目の試験を行なって乳酸菌の同定を行なった。

【 0 0 4 9 】

【表4】

## 分離菌aの性状

試験項目	試験結果
形態	球菌 *1
グラム染色性	+ *1
孢子	- *1
運動性	- *1
酸素に対する態度	通性嫌気性 *1
カタラーゼ	- *1
生成乳酸	L(+) *1
グルコースからのガスの生成	- *1
10℃での生育	+
45℃での生育	+
50℃での生育	+
6.5 %NaCl存在下での生育	+
pH9.6での生育	+
40 %胆汁存在下での生育	+
黄色色素の生成	-
溶血性(羊血液)	α溶血
アルギニンジヒドロラーゼ	+
馬尿酸の加水分解	+
エスクリンの加水分解	+
0.1 %メチレンブルーミルクでの生育	+
酸の生成	
D-キシロース	-
L-ラムノース	+ *2, *3
シュークロース	+
ラクトース	+
メリビオース	+
ラフィノース	+ *2
メレチトース	-
グリセロール	- *2, *3
アドニトール	-
ソルビトール	+ *2
マンニトール	+
L-アラビノース	+
菌体内DNAのGC含量(mol%) *4	40

\*1 前報(試験報告書第598010212-001号)の結果を示した。

\*2 非典型性状

\*3 ただし、*Enterococcus faecium* JCM 5804<sup>T</sup>(基準株)も分離菌aと同様な反応を示した。

\*4 HPLC法によった。

【0050】



表 4 の性状から分離した乳酸菌は、エンテロコツカス属(Enterococcus)のエンテロコツカス・フェシウム(Enterococcus faecium)であると同定された。この乳酸菌は腸球菌といわれる消化管内常在菌であることを確認した。

【 0 0 5 1 】

本実施例における前記発酵時間および加水分解時間ならびに加水分解温度を、豆類の種類、状態、特性、分量、麴菌の種類、状態、特性、分量、乳酸菌の種類、状態、特性、分量、生成物である造血幹細胞増強素材の種類、特性等に応じて調整するとよい。

【 0 0 5 2 】

次に、麴菌大豆発酵培養物を生成する場合の乳酸菌を用いる他方の方法の実施の形態を図 1 の鎖線に示す部分により説明する。

【 0 0 5 3 】

本実施の形態においては、加水分解の際に乳酸菌を製麴処理による生成物に添加するようにしたものである。

【 0 0 5 4 】

この乳酸菌としては、前記実施の形態と同様にエンテロコツカス属特にエンテロコツカス・フェシウムとするとよい。

【 0 0 5 5 】

このようにして乳酸菌を製麴処理による生成物中に入れて加水分解工程を開始させると、加水分解工程中に製麴処理において増殖した麴菌と乳酸菌とが同一基質である前記生成物に共存共生し、乳酸菌は生成物から栄養の付与を受けて増殖を促進させられて、生成物に麴菌と乳酸菌とが一緒に培養された状態となる。特に、製麴処理により生成物中にはビタミン B 類が生成され、乳酸菌にとっても吸収しやすい栄養価の高い成分が生成されるために、これらを栄養源として乳酸菌の増殖が促進される。更に、本実施の形態の生成物内には、麴菌の酵素で種々の成分が加水分解されたものは、大豆粕を消化酵素で分解したものに相当し、消化物と未消化物とが分離している状態である。麴菌の酵素で加水分解された分解物（消化物）は人や家畜が摂取すると直ちに吸収されるが、未分解物は吸収されずに腸内で常在している有用な乳酸菌の栄養源となり、人や家畜にとって有用な短

鎖脂肪酸の生成を増加させることになる。

【0056】

しかも、前記生成物は乳酸菌が活発に増殖できる培地であるから、増殖したその乳酸菌が人や家畜等の腸内で前記生成物に含有される酵素未分解物を栄養源として常在できるものである。そして、最終的には麴菌と有用微生物とが同一基質である生成物に培養されているプロバイオテックスを利用した乳酸菌の増殖促進機能を保有する豆類を原料としたの造血幹細胞増強素材が生成される。

【0057】

このようにして製造された本実施の形態の造血幹細胞増強素材も前記実施の形態のイソフラボンアグリコンと同様に優れた骨髓の造血幹細胞を増強させる機能を発揮する。

【0058】

次に、本発明の実施例を説明する。

【0059】

#### 実施例1

本実施例においては、骨髓の造血幹細胞を増強させる機能を確認する実験を行うために、放射線の照射と骨髓移植を伴うマウス脾コロニー法をラットに施した。

【0060】

#### 試験方法

1) 健康で各区で体重も揃った検体となる雌のラット（雌ICR）（8週齢）を育成した。

【0061】

2) ラットへの投与物として、普通食と、この普通食に対してイソフラボンアグリコンの濃縮素材並びに麴菌大豆発酵培養物としての原料の豆類に製麴処理を施すことによって生成された生成物に対して加水分解工程において麴菌と乳酸菌とを共存共生させて増殖促進させて得られた生成物を混合した餌を用意した。

【0062】

3) 比較区1および2と試験区1および2にラットを5匹ずつ分け、表5に示

すように、比較区1および2に普通食を投与し、試験区1には体重に対するイソフラボンアグリコンの割合を30 ml / kgとなるように普通食に添加し、試験区2には1重量%の前記麹菌大豆発酵培養物を普通食に添加し、各々を3週間飼育した。

【0063】

【表5】

投 与 区 分			投 与 物	投 与 量 (mg/kg)	動 物 数
比較区1	非照射	骨髓移植			
比較区2	放射線照射	骨髓移植	普通食	—	5
試験区1	放射線照射	骨髓移植	普通食 + 濃縮素材 (0.1%)	—	5
試験区2	放射線照射	骨髓移植	普通食 + 麴菌大豆発酵培養物 (1%)	イソフラボンアグリコン 30mg/kg	5

【0064】

## 4) 放射線照射

3 週間の飼育後に、比較区 2、試験区 1 および試験区 2 のラットに対して、8 Gy の照射量を 1 回のみ全身照射した。

【0 0 6 5】

#### 5) 骨髄移植

放射線照射から 2 4 時間経過後に、全区のラットに対して骨髄移植を施した。この場合、ドナーは同系のラットの大腿骨を切り離し、クリーンベンチで大腿骨の両端を短く切り捨て、その一端から 1 0 % Antibiotic-Antimycotic を含有 RPMI Medium 1640 培地 1 ml の注射器で培地を一度に骨髓腔中を通して、試験官中に押し出す。骨髓細胞数は  $10^5/\text{ml}$  に調整し、0. 5 ml を尾静脈より注射した。ドナーラットは 2 Gy 放射線で全身照射し、普通食に 1 重量 % の前記麹菌大豆発酵培養物を添加した餌で 4 週間飼育したものである。

【0 0 6 6】

#### 6) 脾臓の測定

骨髄移植後 7 日目の体重測定後に、全ラットを屠殺し、脾臓を摘出し、脾臓の重量および脾コロニー形成数を測定した。

【0 0 6 7】

#### 7) 体重の測定

全ラットの体重を、骨髄移植前と移植後 7 日目に測定した。

【0 0 6 8】

#### 試験結果

1) 放射線照射後の脾臓の重量変化は図 2 に示す通りであり、1 0 0 g 体重当たりの放射線照射後の脾臓の重量変化は図 3 に示す通りであり、放射線照射後で骨髄移植後の脾臓コロニー形成数は図 4 に示す通りである。

【0 0 6 9】

2) 体重の測定結果は図 5 に示す通りである。

【0 0 7 0】

図 2 から図 4 に示す脾臓に関する試験結果より、比較区 1 の放射線照射を受けていないラットに比較して他の比較区 2 並びに試験区 1 および試験区 2 をみると、本発明の造血幹細胞増強素材を摂取していない比較区 2 は脾臓の重量の増加が少

なく、更に脾臓コロニーの形成数も低いので、骨髄の造血機能が大きく低下させられている。この比較区2の結果より、照射量が8 Gyという強い放射線被曝を受けると、普通食のみを給餌されていたラットにおいては、骨髄移植を受けてもその効果がほとんど発揮されることがなく、脾臓コロニーの形成数も極めて低く抑えられてしまうものであった。

## 【 0 0 7 1 】

これに対し、本発明の造血幹細胞増強素材を摂取している試験区1および試験区2においては、脾臓の重量の増加が多く、更に脾臓コロニーの形成数も高いので、骨髄の造血幹細胞を増強させる機能が大きく向上させられていることがわかる。

## 【 0 0 7 2 】

即ち、本発明のようにイソフラボンアグリコン並びに麹菌大豆発酵培養物を有する造血幹細胞増強素材を体内に吸収させると、照射量が8 Gyという強い放射線被曝を受けた場合であっても、普通食のみを給餌されていた比較区2のラットと異なり、骨髄移植を受るとその効果がたちどころに発揮されて、脾臓コロニーの形成数が極めて多くなるものであった。従って、本発明のイソフラボンアグリコン並びに麹菌大豆発酵培養物を有する造血幹細胞増強素材を体内に吸収させると、放射線照射により低下させられた骨髄の造血機能を大きく回復させることができた。このことより、例えば照射量が6 Gy、4 Gy等の弱い放射線被曝を受けた場合には、本発明のイソフラボンアグリコン並びに麹菌大豆発酵培養物を有する造血幹細胞増強素材を体内に吸収させると、骨髄移植を施さなくとも、骨髄移植を施した場合と同様に、脾臓コロニーの形成数が多くなって、放射線照射により低下させられた骨髄の造血機能を大きく回復させることが期待できる。

## 【 0 0 7 3 】

このようにして骨髄の造血機能が確実に回復させられているので、本発明の造血幹細胞増強素材には、骨髄の造血幹細胞を増強させる機能があることがわかる

## 【 0 0 7 4 】

従って、イソフラボンアグリコン並びに麹菌大豆発酵培養物からなる造血幹細胞

胞増強素材を体内に吸収させると、骨髓の造血幹細胞を増強することができ、造血幹細胞が増殖したり、分化して赤血球および白血球となって、適正量の血球等の成分を有する血液が体内に供給されることとなる。

【 0 0 7 5 】

これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髓の造血作用としての造血幹細胞の生成が常に正常に行われて適正量の血液が体内に供給されることとなり、例えば、大量の放射線照射を受けたり、癌の治療法としての放射線照射を受けたり、抗癌剤の投与を受けた場合に起こるとされている骨髓による造血機能の低下を防止したり、低下してしまった造血機能を大きく回復させることが期待できる。これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくことによって、副作用を発生させないで癌治療を施して、癌を克服することができることが期待できる。

【 0 0 7 6 】

更に、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髓の造血幹細胞を増強させて、適正量の血球等の成分を有する血液を体内に供給させる機能を発揮させて、各種の病気の予防を行って、健康を維持することが期待できる。

【 0 0 7 7 】

なお、本発明は前記実施の形態並びに実施例に限定されるものではなく、必要に応じて変更することができる。本発明の造血幹細胞増強素材は前記実施例のように経口投与の他に点滴によって体内に吸収させるようにしてもよい。

【 0 0 7 8 】

【発明の効果】

本発明の造血幹細胞増強素材はこのように構成され作用するものであるから、経口摂取や点滴などにより体内に吸収されると、骨髓の造血幹細胞を増強することができるという優れた効果を奏することができる。

【 0 0 7 9 】

そして、本発明の造血幹細胞増強素材は、体内に吸収されると、骨髓の造血作

用を増強させて、造血幹細胞が増殖したり、分化して赤血球および白血球となつて、適正量の血球等の成分を有する血液が体内に供給させる効果を発揮する。

【 0 0 8 0 】

これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髓の造血作用としての造血幹細胞の生成が常に正常に行われて適正量の血球等の成分を有する血液が体内に供給されることとなり、例えば、大量の放射線照射を受けたり、癌の治療法としての放射線照射を受けたり、抗癌剤の投与を受けた場合に起こるとされている骨髓による造血機能の低下を防止したり、低下してしまった造血機能を大きく回復させることが期待できる。これにより、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくことによって、副作用を発生させないで癌治療を施して、癌を克服することができることが期待できる。

【 0 0 8 1 】

更に、本発明の造血幹細胞増強素材を経口摂取や点滴などにより体内に吸収させておくと、骨髓の造血幹細胞を増強させて、適正量の血球等の成分を有する血液を体内に供給させる機能を発揮させて、各種の病気の予防を行って、健康を維持することが期待できる。特に、原子力施設において作業する人や、レントゲン等の放射線を取り扱う人にとって、本発明の造血幹細胞増強素材を摂取することによってより効果的に健康を維持することが期待できる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 本発明の造血幹細胞増強素材を生成する工程図

【図 2】 本発明の造血幹細胞増強素材を摂取したラット等の放射線照射後の脾臓の重量変化を示す線図

【図 3】 本発明の造血幹細胞増強素材を摂取したラット等の 1 0 0 g 体重当たりの放射線照射後の脾臓の重量変化を示す線図

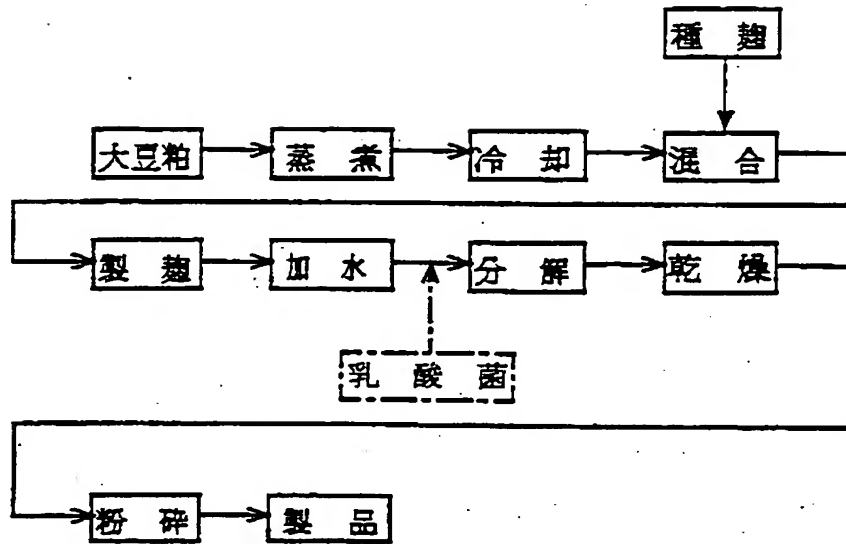
【図 4】 本発明の造血幹細胞増強素材を摂取したラット等の放射線照射後で骨髓移植後の脾臓コロニー形成数を示す線図

【図 5】 本発明の造血幹細胞増強素材を摂取したラット等の体重の変化を示す線図

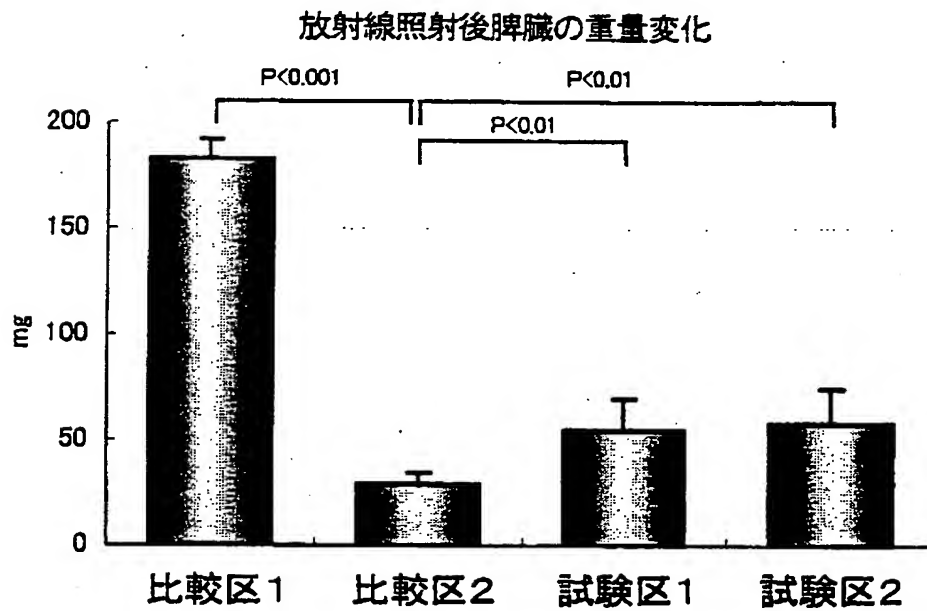


【書類名】 図面

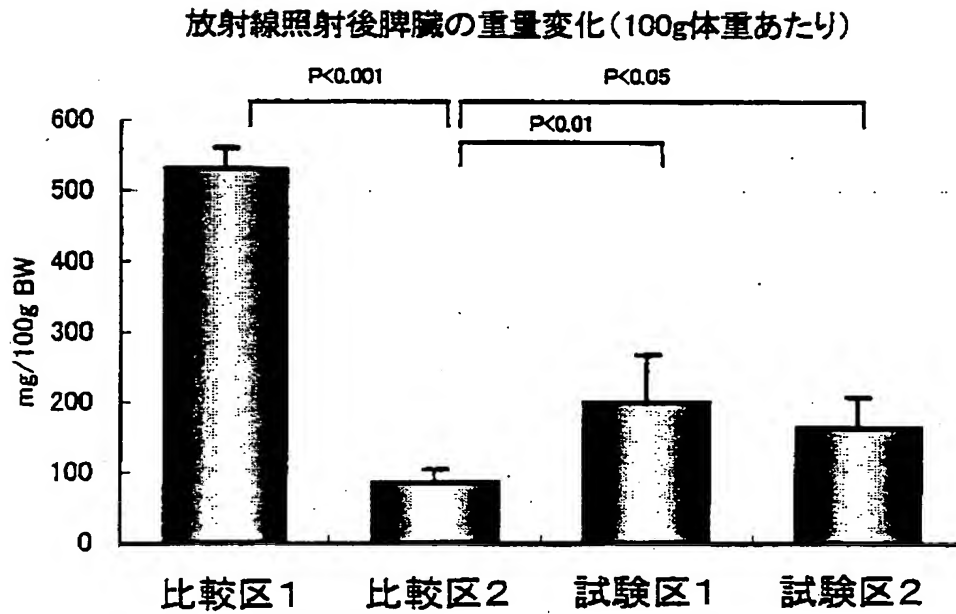
【図 1】



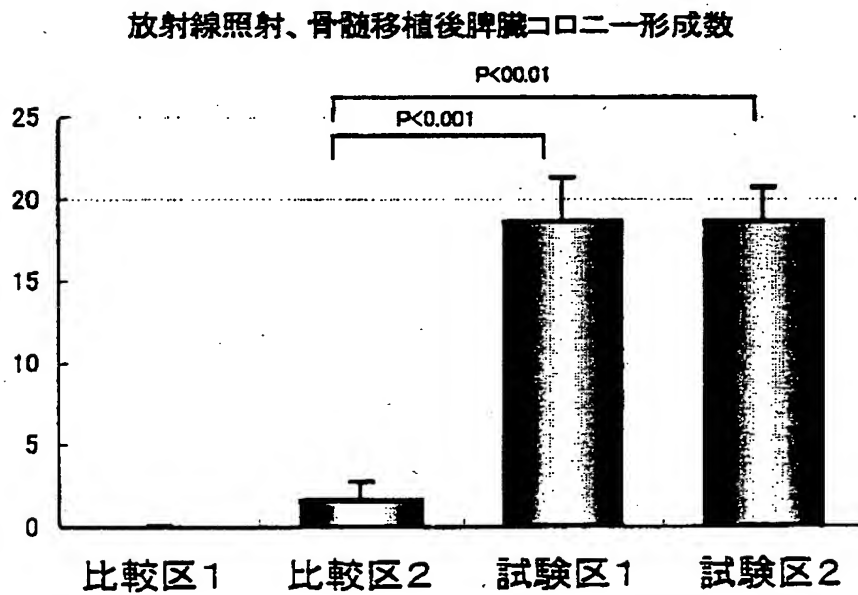
【図 2】



【図3】

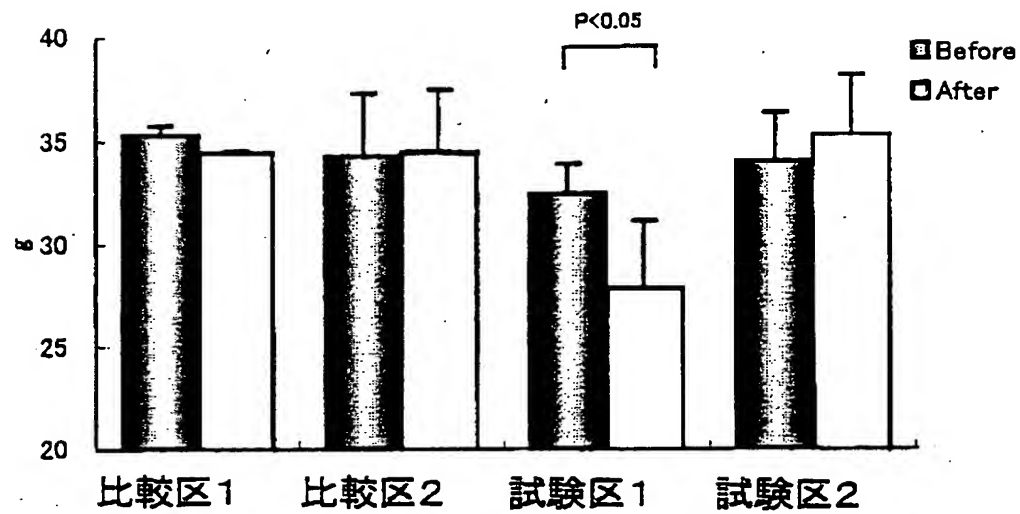


【図4】



【図 5】

放射線照射前及び骨髄移植後の体重変化



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 経口摂取や点滴などにより体内に吸収させて、骨髓の造血幹細胞を増強することのできる造血幹細胞増強素材を提供すること。

【解決手段】 イソフラボンアグリコンを有すること。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000110882]

1. 変更年月日 1999年10月14日  
[変更理由] 住所変更  
住 所 東京都品川区東品川2丁目2番20号  
氏 名 二チモウ株式会社